BIOHIT HealthCare

Innovating for Health

BIOHIT ACTIVE B12

(HOLOTRANSCOBALAMIN)

INSTRUCCIONES DE USO



602 290





For *in vitro* diagnostic use

Store at 2-8 °C Upon Receipt

Biohit Oyj Laippatie 1, FI-00880 Helsinki, Finland

Tel. +358 9 773 861, info@biohit.fi, www.biohithealthcare.com

INSTRUCCIONES DE USO **España**

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) **N.º cat. 602290**

1. USO PREVISTO

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) es un enzimoinmunoanálisis (EIA) para la determinación cuantitativa de la holotranscobalamina (HoloTC) en el suero humano. La HoloTC (vitamina B12 unida a la transcobalamina) se utiliza de forma auxiliar para el diagnóstico y el tratamiento de la carencia de vitamina B12 .

2. INTRODUCCIÓN

Existen tres proteínas de unión implicadas en el transporte de la vitamina B12 en el organismo: el factor intrínseco, (FI), la transcobalamina (TC) y la haptocorrina (HC). Estas proteínas de unión aseguran la absorción eficaz de la escasa cantidad de vitamina B12 presente en la dieta. Cuando la TC y HC se unen a la vitamina B12 los complejos resultantes se conocen como holotranscobalamina y holohaptocorrina (HoloHC), para distinguirlos de las proteínas que no llevan asociada ninguna vitamina.

La fracción principal en la circulación, la HoloHC, representa el 70 - 90 % de la vitamina B12 en sangre, pero es inerte desde el punto de vista biológico. La HoloTC supone tan solo el 10 - 30 % de la vitamina B12 que circula por la sangre, pero es la única forma de vitamina B12 que pueden absorber las células del organismo. La proteína TC por si misma transporta la vitamina B12 desde su punto de absorción en el íleon hasta los tejidos y las células. A continuación, la vitamina se asimila como complejo HoloTC (vitamina B12 unida a la transcobalamina) a través de una absorción específica mediada por receptores. Este proceso suministra vitamina B12 a las células del organismo y proporciona la vitamina en forma de coenzima para realizar las funciones celulares esenciales, como la síntesis de ADN.

Como la HoloTC posee una semivida en circulación más corta que la de la HoloHC, la primera alteración que tiene lugar cuando ocurre un balance negativo de vitamina B12 es muy probable que sea un descenso de la concentración sérica de HoloTC[1].

La medida de la B12 total en suero tiene algunas limitaciones, en concreto, que la mayor parte de la cobalamina medida está unida a la HC biológicamente inerte. Se han publicado algunos estudios que concluyen que la HoloTC sería un mejor indicador del estado de la vitamina B12 que la B12 total en suero[2,3]. Como cabe esperar, los niveles de HoloTC son bajos en los pacientes con signos bioquímicos de carencia de vitamina B12[4].

Se han referido valores reducidos en personas vegetarianas[5] y vegetalistas[6], así como en poblaciones con un consumo reducido de vitamina B12[7]. Sobre todo, se han referido niveles bajos en suero de HoloTC, pero no de B12 total, en pacientes con enfermedad de Alzheimer, en comparación con los niveles del grupo de referencia de personas sanas[8]. Los niveles de HoloTC reflejan el estado de la vitamina B12, con independencia de la absorción reciente de la vitamina[9].

3. PRINCIPIOS DEL ANÁLISIS

Los pocillos de microtitulación están recubiertos con un anticuerpo monoclonal altamente específico para la B12 activa (holotranscobalamina). Durante la primera incubación, la holotranscobalamina en suero se une específicamente a la superficie recubierta con el anticuerpo. En la segunda incubación, el conjugado se une a cualquier holotranscobalamina capturada. Entonces, se lavan los pocillos para eliminar los componentes no unidos. La holotranscobalamina unida se detecta mediante incubación con el sustrato. Se añade la solución de parada para detener la reacción, lo que produce un producto final de color. La concentración de holotranscobalamina en pmol/L está directamente relacionada con el color generado y se puede estimar por interpolación en una curva dosis-respuesta obtenida con calibradores.

4. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Solo para uso en diagnóstico *in vitro* . Precauciones de seguridad

1. Seguir estrictamente las instrucciones de este folleto, especialmente en cuanto a las condiciones de manipulación y almacenamiento.
2. No pipetear con la boca.
3. No fumar, comer, beber ni aplicarse cosméticos en las zonas donde se manipulan kits y muestras.
4. Se debe proteger debidamente cualquier afección cutánea, así como cortes, abrasiones y otras lesiones de la piel.
5. Los calibradores, controles, conjugado, pretratamiento y concentrado de tampón de lavado contienen azida sódica, que puede reaccionar con el plomo y el cobre de las cañerías, formando azidas metálicas altamente explosivas. Al desechar los residuos, vaciar con agua abundante para evitar la formación de estas azidas.
6. La solución de parada contiene hidróxido de sodio. Evitar el contacto con la piel, los ojos y las membranas mucosas. Los derrames deben limpiarse con cantidades abundantes de agua. En caso de que ocurra un contacto con los ojos, enjuague con agua y acuda inmediatamente al médico.
7. Las hojas de datos de seguridad de los materiales de todos los componentes peligrosos que contiene este kit están disponibles bajo petición a Biohit Oyj.
8. Este producto requiere la manipulación de muestras y materiales de origen humano y animal. Se recomienda considerar todos los materiales de procedencia humana y animal como potencialmente infecciosos y manipularlos conforme a la norma de la OSHA sobre Bioseguridad de nivel 2 de los patógenos de transmisión sanguínea o se deben utilizar otras prácticas pertinentes de bioseguridad para los materiales que contienen o se sospecha que puedan contener agentes infecciosos.

CORROSIVA	Solución de parada	R34 S26 S36/37/39 S45	Causa quemaduras. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y acudir al médico. Llevar ropa protectora adecuada, guantes, gafas y máscara de protección. En caso de accidente, o de sentirse indispuesto, acudir inmediatamente al médico (mostrar la etiqueta si es posible).
NOCIVO	Sustrato	R20/21/22 R38 R43 S23 S24 S28 S29/35 S36/37/39 S46	Nocivo por inhalación, en contacto con la piel y por ingestión. Irritante para la piel. Puede causar sensibilización en contacto con la piel. No inhalar los vapores. Evítese el contacto con la piel. En caso de contacto con la piel, enjuagar inmediatamente con agua abundante. No tirar los residuos por el desagüe. Desechar este material y su recipiente de forma segura. Llevar ropa protectora adecuada, guantes, gafas y máscara de protección. En caso de ingestión, acudir inmediatamente al médico y mostrar el envase.
	Concentrado de tampón de lavado (8x)	R22 R32 R52/53 S29/35 S36/37/39 S46	Nocivo por ingestión. En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. Nocivo para los organismos acuáticos; puede causar efectos adversos de larga duración en el medio acuático. No tirar los residuos por el desagüe. Desechar este material y su recipiente de forma segura. Llevar ropa protectora adecuada, guantes, gafas y máscara de protección. En caso de ingestión, acudir inmediatamente al médico y mostrar la etiqueta o el envase.

5. CONTENIDO DEL KIT

5.1 Solución conjugada CONJ

Un vial de 15 mL de anticuerpo monoclonal murino de la transcobalamina humana marcado con fosfatasa alcalina en tampón Tris con estabilizador de proteína. Conservante: < 0,1 % (p/v) azida sódica. Listo para usar.

5.2 Solución de sustrato  

Un vial de 15 mL de solución tampón de para-nitrofenil fosfato (pNPP). Listo para usar. No exponer a la luz durante el almacenamiento.

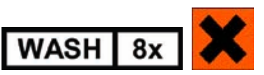
N.B. NOCIVO.

5.3 Solución de parade  

Un vial de 15 mL de hidróxido de sodio 1M, (pH >10).

Listo para usar. N.B. CORROSIVO.

5.4 Concentrado de tampón de lavado



Dos viales de 25 mL de tampón fosfato. Conservante: 0,72 % (p/v) azida sódica.
Diluir antes de usar. N.B. NOCIVO.

5.5 Microplaca

12 × 8 tiras con pocillos de microtitulación (separables) recubiertas con anticuerpo monoclonal murino antiholotranscobalamina, en un envase de papel de aluminio resellable con desecante.

5.6 Solución blanco BLANK

Un vial de 1 mL de tampón fosfato con estabilizador de proteína (bovina).

5.7 Calibradores CAL 1-5

Cinco viales de 1 mL de tampón fosfato con estabilizador de proteína (bovina) que contienen holoTC.
Conservante: < 0,1 % (p/v) azida sódica. Listo para usar. No exponer a la luz durante el almacenamiento.
VÉANSE LAS CONCENTRACIONES EN LAS ETIQUETAS DE LOS VIALES.

5.8 Controles CONTROL LOW CONTROL HIGH

Un vial de control bajo y un vial de control alto: 1 mL de tampón fosfato con estabilizador de proteína (bovina) que contiene holoTC. Conservante: < 0,1 % (p/v) azida sódica.
Listo para usar. No exponer a la luz durante el almacenamiento.

5.9 Solución de pretratamiento PRE

Un vial de 25 mL de tampón citrato. Conservante: < 0,1 % (p/v) azida sódica. Listo para usar.

5.10 Instrucciones de uso

6. MATERIALES Y EQUIPO NECESARIOS QUE NO SE SUMINISTRAN

1. Lector de placa/tira de 96 pocillos con filtro de 405 nm.
2. Pipeta(s) de precisión para dispensar 100 µL. Un dispensador de 8 canales, o semejante, para dispensar aproximadamente 250-300 µL para el lavado manual.
3. Cilindro de medición de vidrio o plástico (1×200 mL).
4. Agua destilada/desionizada.
5. Toallas de papel.
6. Temporizador para intervalos de 30, 35 y 60 minutos.

7. ESTANDARIZACIÓN

Actualmente no existe ningún método ni material de referencia reconocido internacionalmente para la estandarización. Los calibradores de BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) pueden trazarse a los estándares de referencia internos que se sometieron a una asignación única.

8. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

8.1 Estabilidad del kit abierto (en uso)

Se abrió un kit y se reutilizó en tres ocasiones durante un período de tres meses sin ningún efecto negativo sobre su rendimiento. Después del uso, los componentes deben conservarse de nuevo a una temperatura de 2-8 °C.

8.2 Estabilidad del kit sin abrir

A una temperatura de 2-8 °C, los componentes sin abrir son estables hasta la fecha que se indica en las etiquetas.

8.3 Notas sobre la manipulación y el procedimiento

1. Guardar los componentes del kit a una temperatura de entre 2 y 8 °C, y utilizarlos hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas. No utilizar reactivos caducados.
2. Todos los lotes de reactivos y calibradores han sido estandarizados para producir la reacción adecuada. No intercambiar reactivos o calibradores de un lote a otro.
3. Las concentraciones del calibrador se muestran en las etiquetas de los viales y pueden variar entre los lotes.
4. No congelar los kits.
5. El concentrado de tampón de lavado debe diluirse antes del uso. Todos los demás reactivos están listos para usar.
6. El tampón de lavado diluido es estable durante al menos 3 meses si se evita la contaminación microbiana. Después de cada uso, volver a conservarlos a 2-8 °C.
7. Volver a colocar las tiras de microtitulación sobrantes (sin utilizar) en el envase de papel de aluminio con el desecante. Asegurarse de que el sellado es integral y volver a guardarlas a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta que sea necesario.
8. No exponer los calibradores, los controles ni el sustrato a la luz durante el almacenamiento.
9. Evitar la contaminación de los reactivos. Utilizar una punta de pipeta desechable nueva para cada manipulación de reactivos o muestras.

8.4 Indicios de deterioro

El sustrato debe ser entre incoloro y amarillo pálido. Una coloración amarilla más oscura indica contaminación, por lo que el reactivo deberá desecharse. La turbidez o precipitación de cualquier componente indica deterioro, por lo que se deberá desechar el componente.

9. RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

1. El análisis está recomendado para realizarse en suero humano (incluye tubos separadores de suero).
2. No utilizar muestras sumamente hemolizadas o turbias.
3. Mezclar a fondo las muestras descongeladas antes del análisis y evitar repetir el congelado-descongelado.
4. Las muestras pueden someterse a 3 ciclos de congelado-descongelado. Las muestras descongeladas deben centrifugarse a ≥10.000g durante 5 minutos antes de analizarse.
5. No someter las muestras del coágulo o no a temperaturas superiores a la temperatura ambiente durante más de una noche (≤ 16 horas).
6. Las muestras pueden conservarse a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C en el coágulo durante 3 días o fuera del coágulo durante cuatro semanas; para un almacenamiento más prolongado deben conservarse fuera del coágulo a una temperatura de -20 °C hasta un máximo de 6 meses.
7. Preparar cada muestra antes del análisis añadiendo un volumen igual de solución de pretratamiento a la muestra; por ejemplo, 150 µL de muestra y 150 µL de pretratamiento. Las muestras pretratadas pueden almacenarse tapadas durante un máximo de 24 horas a 2-8 °C antes del análisis.

10. MÉTODO ANALÍTICO

10.1 Preparación

Preparación para el análisis

Dejar que todos los componentes del kit, incluidas las tiras de microtitulación, se calienten hasta 18-25 °C durante 30-60 minutos antes de su uso. Mezclar los reactivos invirtiéndolos suavemente.

Al almacenar el tampón de lavado entre 2 y 8 °C, precipitará (podrían verse los cristales). Antes de diluirlo en agua, dejar que el tampón de lavado se caliente (se puede introducir en una estufa a 37 °C si es necesario para acelerar el proceso) hasta que no haya **NINGÚN** precipitado apreciable a simple vista.

Diluir el siguiente reactivo y mezclarlo completamente:

Reactivo	Volumen	Añadir
Concentrado de tampón de lavado x 8	1 vial	175 mL de agua destilada/desionizada

Calcular el número de tiras de microtitulación que necesita para el ensayo y conservar las demás en el soporte para tiras de microtitulación. Devolver las tiras sobrantes al envase de papel de aluminio resellable con el desecante y conservarlas a entre 2-8 °C hasta que sea necesario. Asegurarse de que todas las tiras quedan bien fijadas dentro del soporte para tiras de microtitulación. Los usuarios pueden numerar cada tira en el extremo superior para ayudar a la identificación. Conservar el soporte para tiras de microtitulación para utilizarlo en el futuro.

Preparar cada muestra antes del análisis añadiendo un volumen igual de solución de pretratamiento a la muestra; por ejemplo, 150 µL de muestra y 150 µL de pretratamiento. Las muestras pretratadas pueden almacenarse tapadas durante un máximo de 24 horas a 2-8 °C antes del análisis.

10.2 Protocolo del análisis

1. Establecer referencias en los pocillos para identificarlos.
2. Pipetear 100 µL de los calibradores por duplicado, de los controles del kit por duplicado y de las muestras de pacientes pretratadas (50:50) por duplicado en los pocillos pertinentes. Recordar cambiar las puntas de las pipetas entre adiciones. Este paso no debe exceder de 15 minutos.
3. Incubar durante 60 ± 10 minutos a 18-25 °C.
4. Decantar el contenido de la tira mediante inversión rápida sobre una pila adecuada para desechar los materiales biológicos, teniendo en cuenta el riesgo infeccioso potencial de las muestras. Secar bien las tiras invertidas con toallas de papel. **No lavar.**
5. Añadir 100 µL de conjugado a cada pocillo.
6. Incubar durante 35 ± 5 minutos a 18-25 °C.
7. Decantar el contenido de la tira mediante inversión rápida sobre una pila adecuada para desechar los materiales biológicos. Secar bien las tiras invertidas con toallas de papel.
8. Lavar los pocillos **cinco veces** con un mínimo de 250 µL de tampón de lavado diluido. **Decantar y secar después de cada adición de lavado.**
9. Añadir 100 µL de sustrato a cada pocillo.
10. Incubar durante 30 ± 5 minutos a 18-25 °C. **No decantar.**
11. Añadir 100 µL de solución de parada a cada pocillo, en el mismo orden y velocidad que el sustrato. Golpear suavemente los pocillos para mezclar.
12. Leer las tiras a 405 nm. Leer en un intervalo de 120 minutos desde la adición de la solución de parada.

11. RESULTADOS

11.1. Cálculo e interpretación

Representar el valor medio de la absorbancia de cada calibrador en el eje de abscisas frente a la concentración correspondiente en pmol/L en el eje de ordenadas. **LAS CONCENTRACIONES DEL CALIBRADOR SE MUESTRAN EN LAS ETIQUETAS DE LOS VIALES. LOS VALORES DE CONCENTRACIÓN SE ASIGNAN A CADA LOTE DE CALIBRADORES Y PUEDEN VARIAR DE UN LOTE A OTRO.**

La concentración (pmol/L) de cada muestra puede calcularse localizando el punto de la curva correspondiente al valor medio de la absorbancia de la muestra y la lectura de la concentración correspondiente en pmol/L en el eje de las ordenadas. Este procedimiento puede realizarse manualmente utilizando un papel de gráficos o con un lector de placas con software que incorpore procedimientos de ajuste de curvas. Si utiliza un lector de placas con software interno, deberá utilizar **un algoritmo de ajuste de la curva de regresión lineal**.

A continuación (Figura 1) se muestra un trazado típico como referencia; no se debe utilizar para interpretar los resultados. Las muestras con concentraciones superiores a 128 pmol/L se encuentran fuera del rango del ensayo y deberán registrarse como >128 pmol/L; no se deberán extrapolar los resultados. Las réplicas de muestras individuales que se desvíen menos del 20 % pueden considerarse una indicación de la aceptabilidad del ensayo.

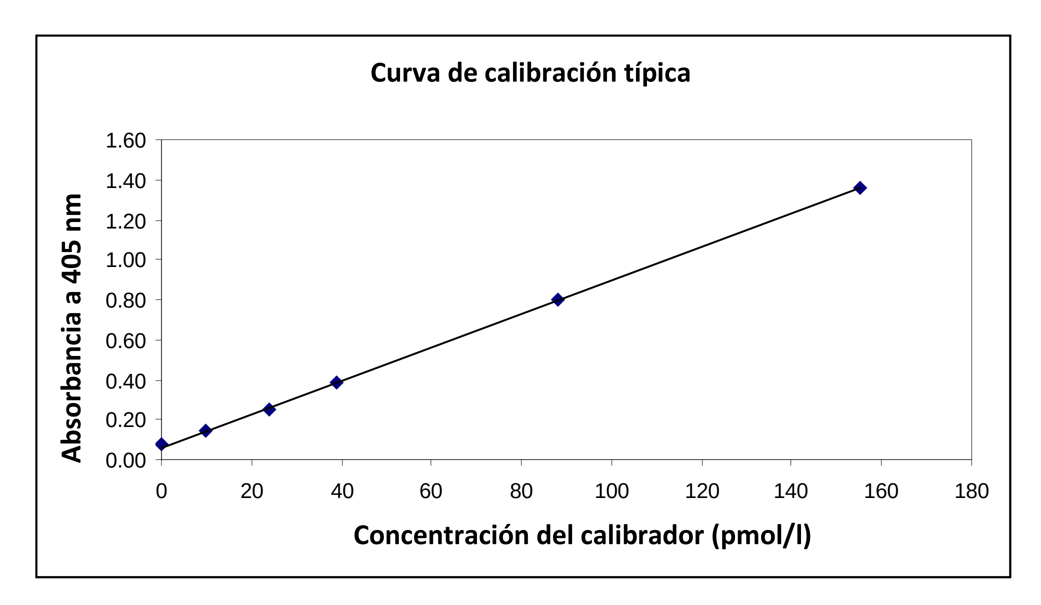


Figura 1. Curva de calibración típica del ensayo BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) .

Unidad de medida

La unidad de medida del ensayo BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) es pmol/L.

Intervalo de medición (rango de notificación)

El rango de notificación del ensayo es de 10 pmol/L a 128 pmol/L.

11.2 Control de calidad

Comprobar que se lleva a cabo un mantenimiento y una calibración del lector de placa apropiados de acuerdo con las instrucciones del fabricante y que se utiliza la longitud de onda (405 nm) y el algoritmo de ajuste de la curva (regresión lineal) correctos.

Los usuarios deben garantizar que están totalmente familiarizados con las instrucciones para la realización del análisis, especialmente la sección de advertencias y precauciones, y las notas sobre manipulación y procedimientos. Antes de notificar los resultados de la prueba del paciente, los usuarios deberán demostrar que pueden obtener unas especificaciones de rendimiento sobre precisión e intervalo notificable de los resultados de la prueba comparables con las establecidas por el fabricante. Los controles bajo y alto listos para el uso del kit deben analizarse por duplicado en todos los ensayos para controlar la calidad del procedimiento de análisis. Dando por sentado que se cumplen las especificaciones de precisión descritas por el fabricante, el hecho de que un control no cumpla las especificaciones de control que aparecen a continuación invalida el análisis y no se deben comunicar los resultados del paciente. El operador puede repetir el análisis, tras haber revisado el procedimiento, o ponerse en contacto con el fabricante. Para repetir el análisis, preparar una dilución nueva de cada muestra. Los laboratorios pueden incluir controles internos en cada análisis si así lo desean. Almacenar

dicho material de control a una temperatura de -20 °C o inferior y evitar los ciclos repetidos de congelación-descongelación. Los conservantes, como, por ejemplo, la azida sódica a <0,1 % (p/v), no afectarán a los resultados de las muestras.
Deben calcularse los intervalos de referencia y los valores límite apropiados para las poblaciones específicas atendidas por los usuarios.

Tabla 1. Especificaciones para los controles bajo y alto.

Especificaciones de control	Control bajo	Control alto
Media del duplicado	De 15 a 35 pmol/L	De 36 a 84 pmol/L

11.3 Valores previstos

Se analizaron 135 muestras de suero de donantes asintomáticos, aparentemente sanos, con edades comprendidas entre 18 y 75 años y con una representación similar de hombres [n = 65] y de mujeres [n = 70], con el EIA BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin).
La concentración media global de la B12 activa (holotranscobalamina) para esta población fue de 72 pmol/L (intervalo de 15 a 147 pmol/L). Basándose en los datos de esta población de referencia, el intervalo de referencia (el 95 % de los resultados centrados) es:

Intervalo de referencia	21 – 123 pmol/L

Este intervalo de referencia se sugiere únicamente como guía y cada laboratorio debe determinar un intervalo de referencia adecuado a la población a la que atiende, teniendo en consideración sus factores geográficos, personales, alimenticios, medioambientales, o la práctica clínica.

12. DATOS SOBRE EL RENDIMIENTO

Datos representativos; los datos pueden variar en cada laboratorio.

12.1 Linealidad de la dilución

Basándose en un estudio realizado con la guía del documento de CLSI EP6-A[10], el ensayo BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) demostró su linealidad entre 5,3 y 156,0 pmol/L (con redondeo a un decimal) en todo el intervalo de medición del ensayo; los resultados obtenidos en cada laboratorio pueden diferir de estos datos).

12.2 Exactitud

Se llevó a cabo un estudio de correlación con muestras séricas de adultos aparentemente sanos. Todas las muestras fueron analizadas mediante el EIA BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) y otra prueba de la holotranscobalamina disponible en el mercado, de acuerdo con el documento de CLSI EP9-A2[11]. Las concentraciones de las muestras estaban en el intervalo de 13,8 a 112,8 pmol/L. En la tabla 2 se presentan los valores estadísticos obtenidos.

Tabla 2. EIA BIOHIT Active B12 en comparación con una prueba disponible en el mercado.

EIA BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) en comparación con una prueba disponible en el mercado	
Número de muestras	111
Pendiente de la línea de regresión (regresión de Passing-Bablok) (IC 95 %)	0,95 (de 0,89 a 1,01)
Ordenada en el origen (regresión de Passing-Bablok) (IC 95 %)	8,39 (de 5,73 a 11,77)
Coeficiente de correlación (r) (Pearson) (IC 95 %)	0,93 (de 0,90 a 0,95)

12.3 Precisión

Se analizaron siete (7) muestras de suero humano con 3 lotes de reactivos. Las muestras fueron analizadas por 2 operadores en réplicas de 8, una vez al día durante 5 días (total n=80). Los datos de este estudio se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Datos de precisión.

Muestra	n	Lote	Operador	Media (pmol/L)	% CV intraensayo	% CV total
1 A	80	1	1	17.8	7.5%	8.2%
			2	17.5	3.1%	9.3%
		2	1	20.1	6.0%	6.6%
			2	20.3	6.9%	9.2%
		3	1	19.1	5.5%	8.0%
			2	18.9	8.5%	11.0%
2 A	80	1	1	21.8	5.5%	9.9%
			2	21.8	3.9%	7.5%
		2	1	22.6	5.6%	8.7%
			2	23.5	9.0%	10.3%
		3	1	23.9	7.0%	10.2%
			2	23.2	5.8%	8.9%
3 A	80	1	1	28.8	3.8%	7.8%
			2	30.7	4.3%	9.6%
		2	1	31.0	6.8%	8.0%
			2	31.4	4.3%	6.1%
		3	1	31.5	4.5%	6.4%
			2	32.2	4.0%	9.2%
4 A	80	1	1	49.3	3.9%	7.4%
			2	52.6	4.1%	6.7%
		2	1	50.8	5.6%	10.0%
			2	51.7	4.7%	5.9%
		3	1	52.6	4.6%	4.8%
			2	55.0	5.5%	6.1%
5 A	80	1	1	68.4	4.0%	7.6%
			2	73.2	3.7%	7.5%
		2	1	74.8	4.3%	8.2%
			2	75.9	4.6%	6.4%
		3	1	75.1	4.4%	7.9%
			2	76.3	4.9%	6.2%
7 A	80	1	1	115.9	4.2%	5.9%
			2	121.1	3.6%	7.0%
		2	1	123.2	4.3%	10.2%
			2	124.0	4.2%	6.4%
		3	1	127.0	4.8%	10.1%
			2	129.5	3.2%	5.6%
Control bajo	80	1	1	23.7	9.4%	10.9%
			2	23.8	5.1%	11.5%
		2	1	20.0	6.0%	7.5%
			2	18.6	5.8%	8.5%
		3	1	20.3	8.3%	9.7%
			2	20.1	8.3%	10.0%
Control alto	80	1	1	61.2	6.3%	6.4%
			2	58.8	4.5%	8.9%
		2	1	50.3	6.3%	8.1%
			2	50.2	5.9%	8.4%
		3	1	52.2	7.7%	9.2%
			2	50.8	5.8%	8.5%

12.4 Límite de blanco

En un estudio representativo, las determinaciones del límite de blanco se realizaron usando dos muestras de holotranscobalamina de nivel bajo y dos lotes de reactivos (120 réplicas por lote de reactivo). El límite de blanco del EIA BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) resultó ser de 4,9 pmol/L (con redondeo a un decimal).

12.5 Límite de detección

En un estudio representativo, las determinaciones del límite de detección se realizaron usando cinco muestras de holotranscobalamina de nivel bajo y dos lotes de reactivos (120 réplicas por lote de reactivo). El límite de detección del EIA BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) resultó ser de 8,1 pmol/L (con redondeo a un decimal).

12.6 Límite de cuantificación

Se realizaron determinaciones del límite de cuantificación usando cinco muestras de bajo nivel de holotranscobalamina y dos lotes de reactivos (120 réplicas por lote de reactivo). El límite de cuantificación del EIA BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) resultó ser de 8,3 pmol/L (con redondeo a un decimal).

12.7 Efecto de gancho por dosis altas

El efecto de gancho por dosis altas (del inglés High dose hook) es un fenómeno por el cual muestras con concentraciones muy elevadas pueden dar una lectura dentro del intervalo dinámico del ensayo. En lo que respecta al EIA BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin), no se detectó ningún efecto de este tipo al analizar dos muestras con una concentración aproximada de 419 y 2236 pmol/L.

12.8 Reactividad cruzada

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) se ha diseñado para tener una desviación máxima en la concentración de holotranscobalamina de ≤10 % en presencia de apotranscobalamina o haptocorrina.
Se llevó a cabo un estudio basado en las pautas del documento EP7-A2 del instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI)[12]. Tres muestras con niveles de holotranscobalamina en todo el intervalo del análisis fueron suplementadas con 500 pmol/L de apotranscobalamina o 5000 pmol/L de haptocorrina. La desviación máxima en la concentración de holotranscobalamina osciló entre -5 % y 1 %.

12.9 Interferencia

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) se ha diseñado para tener una desviación máxima en la concentración de holotranscobalamina de ≤10 % en presencia de compuestos que puedan interferir.
Se llevó a cabo un estudio basado en las pautas del documento EP7-A2 del instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI)[12]. Las muestras con niveles de holotranscobalamina en todo el intervalo del análisis fueron suplementadas con los compuestos con capacidad de interferir enumerados en la tabla siguiente. La desviación máxima en la concentración de holotranscobalamina osciló entre -10 % y 8 %.

Tabla 4. Lista de compuestos con capacidad de interferir analizados.

Sustancia con capacidad de interferencia	No se encontró ninguna interferencia hasta la siguiente concentración
Hemoglobina	500 mg/dL
Bilirrubina	30 mg/dL
Triglicéridos (solución Intralipid)	3000 mg/dL
Factor reumatoide	7500 IU/dL
Proteína total	9000 mg/dL

13. GARANTÍA

Biohit deberá solucionar todo defecto hallado en cualquier Producto (el ”Producto Defectuoso”) causado por materiales inadecuados o negligencia en la manufacturación y que eviten el funcionamiento mecánico o el uso previsto de los Productos incluyendo, entre otros aspectos, las funciones indicadas en las especificaciones de Biohit para los Productos. SIN EMBARGO, EN CASO DE HALLARSE UNA FALTA CAUSADA POR TRATO INDEBIDO, USO INDEBIDO, DAÑO ACCIDENTAL, CONSERVACIÓN INCORRECTA O USO DE LOS PRODUCTOS PARA PROCEDIMIENTOS FUERA DE LAS LIMITACIONES INDICADAS O DE SUS ESPECIFICACIONES, CONTRARIOS A LAS INSTRUCCIONES PROPORCIONADAS EN EL MANUAL DE INSTRUCCIONES, CUALQUIER GARANTÍA SE CONSIDERARÁ NULA. El periodo de esta garantía se indica en el manual de instrucciones de los Productos y entrará en vigor a partir de la fecha de expedición del Producto en cuestión por parte de Biohit. Este kit de Diagnóstico de Biohit se ha elaborado en conformidad con los protocolos de gestión de calidad ISO 9001 / ISO 13485. En caso de conflicto con respecto a su interpretación, se aplicará el texto en inglés.

14. INFORMACIÓN DE PEDIDOS

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) Cat. No 602 290

15. FECHA DE PUBLICACIÓN

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) Version 01, October 2014.

16. REFERENCIAS

1. Nexo E. Hvas A-M. Bleie Ø *et al*. Holo-transcobalamin is an early marker of changes in cobalamin homeostasis. A randomized placebo-controlled study. *Clin Chem* 2002;48(10):1768-71.
2. Valente E. Scott JM. Ueland PM *et al*. Diagnostic accuracy of holotranscobalamin. methylmalonic acid. serum cobalamin. and other indicators of tissue vitamin B12 status in the elderly. *Clin Chem* 2011;57(6):856-863.
3. Nexo E. Hoffmann-Lucke E. Holotranscobalamin. a marker of vitamin B12 status: analytical aspects and clinical utility. *Am J Clin Nutr* 2011;94(1):359S-365S.
4. Obeid R. Jouma M. Hermann W. Cobalamin status (holotranscobalamin. methylmalonic acid) and folate as determinants of homocysteine concentration. *Clin Chem* 2002;48(11):2064-5.
5. Herrmann W. Schorr H. Obeid R *et al*. Vitamin B12 status. particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations and hyperhomocysteinemia in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 2003;78:131-6.
6. Lloyd-Wright Z. Hvas A-M. Moller J *et al*. Holotranscobalamin as an indicator of dietary vitamin B12 deficiency. *Clin Chem* 2003;49(12):2076-8.
7. Refsum H. Yajnik CS. Gadkari M *et al*. Hyperhomocysteinemia and elevated methylmalonic acid indicate a high prevalence of cobalamin deficiency in Asian Indians. *Am J Clin Nutr* 2001;74:233-41.
8. Refsum H. Smith AD. Low Vitamin B12 status in confirmed Alzheimer's disease as revealed by serum holotranscobalamin. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:959-61.
9. Chen X. Remacha AF. Sarda MP *et al*. Influence of cobalamin deficiency compared with that of cobalamin absorption on serum holo-transcobalamin II. *Am J Clin Nutr* 2005;81:110-14.
10. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline.* NCCLS document EP6-A. Wayne. PA: NCCLS; 2003.
11. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline–Second Edition*. NCCLS Document EP9-A2. Wayne. PA: NCCLS; 2002.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Interference Testing in Clinical Symbols*.

IVD	Para uso diagnóstico *in vitro*	CONTROL LOW	Control bajo
REF	Número de catálogo	CONTROL HIGH	Control alto
LOT	Código de lote	CONJ	Conjugado
Σ 96	96 pruebas	SUBS	Sustrato
	Precaución	STOP	Solución de parada
	Consultar las instrucciones de uso	PRE	Pretratamiento
	Proteger de la luz	WASH 8x	Concentrado de tampón de lavado (8x)
	Fecha de caducidad	BLANK	Blanco
+2°C +8°C	Almacenar entre 2 y 8 °C	CAL 1-5	Calibradores 1 a 5
			Corrosivo
	No reutilizar		Nocivo

Oficina principal
BIOHIT OYJ
Laippatie 1
00880 Helsinki, Finland
Tel: +358 9 773 861
Fax: +358 9 7738 6200
E-mail: info@biohit.fi
www.biohithealthcare.com

400920-01